

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Untersuchungszeitraum und Tiermaterial

Die Untersuchung wurde vom 1. Januar 2002 bis zum 31. Dezember 2002 als Feldstudie an festliegenden Kühen aus dem Patientengut einer tierärztlichen Gemischtpraxis im Norden Baden-Württembergs (Hohenlohekreis) durchgeführt.

Die 185 erfassten Patienten gehörten den Rassen Deutsches Fleckvieh (FV) und Holstein-Schwarzbunt bzw. Holstein-Rotbunt an.

Da im Untersuchungsgebiet eine starke Verkreuzung zwischen den Holstein-Schwarzbunten und Holstein-Rotbunten Kühen stattgefunden hat, werden diese Tiere im Weiteren gemeinsam als Holsteinkühe (Hst) bezeichnet. Auch beim DHV (Deutscher Holsteinverbund) werden die Schwarz- und Rotbunten Kühe seit langem als eine Rasse geführt.

Das Alter der Tiere lag zwischen 2,5 und 12 Jahren.

Die Tiere stammten aus 84 verschiedenen Betrieben, wobei in einem Betrieb nur noch ein Tier gehalten wurde und der größte Betrieb etwa 120 laktierende Kühe umfasste. Die durchschnittliche Herdengröße im Praxisgebiet betrug ca. 50 bis 60 Tiere pro Betrieb. Daher waren sowohl die Haltungsformen als auch die Fütterungsregime der Tiere sehr uneinheitlich. Die Haltung in Anbindeställen und in Laufställen kam etwa zu gleichen Teilen vor.

Die im Praxisgebiet allgemein übliche Futtermischung bestand aus einer Gras- und Maissilage, des Weiteren aus Heu sowie in der Gabe von Getreideschrot und/oder einem handelsüblichen Milchleistungsfutter. Die Kraftfuttergaben erfolgten noch recht häufig mittels der Zuteilung per Hand, gefolgt von der Transponder-Abruffütterung und in geringem Ausmaß schließlich über die Totale-Mischung (TMR).

3.2 Gruppenzuteilung

Da die Untersuchungen im Rahmen des alltäglichen Praxisablaufs vorgenommen wurden, waren drei Tierärzte an der Erhebung der Patientendaten beteiligt. Die Zuordnung der Kühe zu der Behandlungsgruppe A (Caloriphos®) oder B (Calci-Tad N 25®) erfolgte für jeden Tierarzt getrennt. Sie wurde jeweils in alternierender Reihenfolge vorgenommen, so dass schon vor der Erstuntersuchung feststand, mit welchem Präparat die festliegende Kuh zu behandeln war. Die Behandlungsgruppe A (Caloriphos®) enthält dadurch 93 Tiere (50,3 %) und die Behandlungsgruppe B (Calci-Tad N 25®) umfasst 92 Tiere (49,7 %), wie aus der Tabelle 5 zu entnehmen ist.

Tab. 5: Verteilung der Patienten auf die beiden Behandlungsgruppen (n)

Behandlungsgruppe	FV n = 118	Hst n = 67	gesamt n = 185
Gruppe A (Caloriphos)	61,3 % (57)	38,7 % (36)	50,3% (93)
Gruppe B (Calci-Tad N 25)	66,3 % (61)	33,7 % (31)	49,7 % (92)

3.3 Anamnese und klinische Untersuchung

Vor der Erstbehandlung wurde die Anamnese erhoben und eine klinische Untersuchung durchgeführt. Die dabei ermittelten Daten und Befunde wurden in einen dafür entwickelten Fragebogen eingetragen, den die Abbildungen 1 a und b wiedergeben.

Zunächst wurden das Datum und der Name des Besitzers aufgeschrieben.

Nachfolgend wurde die Rassezugehörigkeit notiert und die Identität des Tieres anhand der Ohrmarke festgestellt.

Weitere Informationen zum Patienten umfassten das Alter bzw. die Laktationsnummer und die Jahresmilchleistung der vorausgegangenen Laktation. Soweit vorhanden, wurden diese Daten aus den Tierpässen oder den Ergebnissen zur Milchleistungsprüfung (MLP) entnommen. Anderenfalls wurden die Angaben der Besitzer notiert.

Die Körperkondition wurde mit Hilfe des Body Condition Scores (BCS) beurteilt, wie er bei Rossow und Bolduan (1994 a) beschrieben ist.

Weiterhin wurde in der Anamnese nach dem Kalbezeitpunkt und dem Geburtsverlauf gefragt. Als Erkrankungszeitpunkt wurde die Uhrzeit notiert, zu der die Besitzer bei den Kühen erste Krankheitsanzeichen oder das Festliegen bemerkten.

Des Weiteren wurde die Uhrzeit beim Behandlungsbeginn aufgeschrieben, um somit den zeitlichen Abstand zwischen dem Krankheitsbeginn und der Erstbehandlung zu ermitteln. Zuletzt wurden die eventuell durchgeführten Prophylaxemaßnahmen erfasst.

Die klinische Untersuchung begann mit der Beurteilung der Oberflächentemperatur an den Ohren sowie über den Hautarealen am Rücken und der Kruppe. Dies geschah palpatorisch durch den aufgelegten Handrücken.

Die Körpertemperatur wurde danach rektal mit einem Thermometer gemessen.

Anschließend wurde das Allgemeinbefinden beurteilt. Es wurde festgehalten, ob eine Störung des Sensoriums vorlag oder ob die Kühe unbeeinträchtigt waren.

Wenn das Stehvermögen der Kühe nicht mehr erhalten war, dann wurde die Körperhaltung erfasst, in der die Tiere festlagen.

Als Nächstes wurde nach eventuellen Aufstehversuchen der Tiere gefragt.

Sofern an den Hintergliedmaßen Vergrittungsgeschirre angebracht waren, wurde des Weiteren erörtert, ob diese vor oder nach dem Kalben bzw. Krankheitsbeginn angelegt worden sind.

Anhand der Anamnese und der klinischen Untersuchung wurde dann eine Verdachtsdiagnose gestellt.

In die Untersuchung wurden schließlich all die Tiere einbezogen, die im Zeitraum von 14 Tagen ante partum (Transitphase) bis zu 10 Tagen post partum (Frühpuerperium) zum Festliegen kamen und bei denen die hypokalzämische Gebärparese als Verdachtsdiagnose geäußert wurde.

Schließlich wurden die durchgeführte Behandlung sowie der Behandlungserfolg notiert. Bei einer erfolgreichen Behandlung wurde zusätzlich der Zeitpunkt des Aufstehens erfasst. Die entnommenen Blutproben wurde durch eine fortlaufende Nummer eindeutig dem jeweiligen Patienten und dem Behandlungszeitpunkt zugeordnet.

Sofern weitere Behandlungen nötig waren, wurden jeweils der Behandlungszeitpunkt, die eingesetzten Medikamente, die dazugehörige Blutproben-Nummer und eventuelle Ergebnisse einer in der Praxis durchgeführten Blutuntersuchung sowie der anschließende Behandlungserfolg notiert.

<u>Erhebungsbogen zur Promotion</u>		
Datum:	Name des Besitzers:	
<u>Signalement des Tieres:</u>		
Rasse:	Ohrenmarke:	
<u>Angaben zum Tier:</u>		
Alter:	Laktationsnummer:	
Durchschnittliche Jahresleistung:	Liter	
Kondition (BCS):		
Kalbezeitpunkt:		
Geburtsverlauf:	<input type="checkbox"/> Spontangeburt	
	<input type="checkbox"/> Geburtshilfe	
	<input type="checkbox"/> Schweregeburt	
	<input type="checkbox"/> Kaiserschnitt	
	<input type="checkbox"/> Nachgeburtverhalten:	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Erkrankungszeitpunkt:	Behandlungszeitpunkt:	
Vorbehandlungen:	<input type="checkbox"/> Vitamin D3	Präparat/Dosis:
	<input type="checkbox"/> Kalzium	Präparat/Dosis:
	<input type="checkbox"/> andere	Präparat/Dosis:
<u>Klinisches Bild:</u>		
Oberflächentemperatur:	<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> erkaltet an:
		<input type="checkbox"/> Ohren
		<input type="checkbox"/> Rücken
		<input type="checkbox"/> Kruppe
Körperinnentemperatur in °C:		
Sensorium:	<input type="checkbox"/> erhalten	<input type="checkbox"/> gestört
Festliegen in:	<input type="checkbox"/> Brustlage	<input type="checkbox"/> Kuh steht
	<input type="checkbox"/> Seitenlage	
Aufstehversuche	<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein
Fußfesseln:	<input type="checkbox"/> ja, seit	<input type="checkbox"/> nein
<u>Verdachtsdiagnose:</u>		

Abb. 1 a: Seite 1 des Erhebungsbogens zur Promotion

Therapie und Verlauf:	Ergebnis der Blutuntersuchung: (in der Praxis)
<p>1. Behandlungszeitpunkt: Proben-Nr.: verabreichte Medikamente/Therapie: 500 ml Caloriphos bzw. Calci Tad N 25 500 ml Glukose 40% andere: Behandlungserfolg: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p>	<p>vor der Erstbehandlung: Ca mg/dl P mg/dl T-Bil mg/dl CK U/L andere:</p>
<p>2. Behandlungszeitpunkt: Proben-Nr.: verabreichte Medikamente/Therapie: a) b) c) d) Behandlungserfolg: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p>	
<p>3. Behandlungszeitpunkt: Proben-Nr.: verabreichte Medikamente/Therapie: a) b) c) d) Behandlungserfolg: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p>	<p>weitere Blutuntersuchung: Zeitpunkt: Ca mg/dl P mg/dl T-Bil mg/dl CK U/L andere:</p>
<p>4. Behandlungszeitpunkt: Proben-Nr.: verabreichte Medikamente/Therapie: a) b) c) d) Behandlungserfolg: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p>	
<p>Euthanasie <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein</p>	

Abb. 1 b: Seite 2 des Erhebungsbogens zur Promotion

3.4 Behandlung und Behandlungserfolg

Die Kühe, bei denen klinisch die Verdachtsdiagnose einer hypokalzämischen Gebärpause gestellt wurde, bekamen entsprechend der alternierenden Gruppenzuordnung in die Gruppe A (Caloriphos®) oder in die Gruppe B (Calci-Tad N 25®) jeweils 500 ml der entsprechenden Kalziumlösung intravenös (Vena jugularis) verabreicht. Die beiden Infusionslösungen unterschieden sich hinsichtlich ihres Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumgehaltes. Die genaue Zusammensetzung der jeweiligen Infusionslösung ist der Tabelle 6 zu entnehmen. Die Tiere beider Gruppen erhielten bei der Erstbehandlung zusätzlich 500 ml einer 40 %igen Glukoselösung (Glucose-Lösung 40 Prozent [Delta-Pharma]), die ebenfalls intravenös gegeben wurde.

Tab. 6: Zusammensetzung der zur intravenösen Therapie eingesetzten Infusionslösungen

Gruppe A: 500 ml des Präparates Caloriphos® :		
100 ml enthalten:	Calciumgluconat	24,0 g
	(entspricht 2,16 g Ca)	
	Magnesiumchlorid · 6 H ₂ O	4,5 g
	(entspricht 0,54 g Mg)	
	Glycerolphosphorsaures Natrium	3,0 g
	(entspricht 0,24 g P)	
	Invertzucker	4,0 g
Gruppe B: 500 ml des Präparates Calci Tad® N 25:		
100 ml enthalten:	Calciumgluconat 1 H ₂ O	1,55 g
	Calciumborgluconat	21,45 g
	Calciumhydroxid	0,66 g
	(entspricht zusammen 2,28 g Ca)	
	Magnesiumchlorid · 6 H ₂ O	3,25 g
	(entspricht 0,39 g Mg)	
	2-Aminoethyl-dihydrogenphosphat	0,30 g
	(entspricht 0,066 g P)	

Notwendige Nachbehandlungen wurden frühestens sechs bis acht Stunden nach der vorherigen Infusion durchgeführt, um das Auftreten lebensbedrohlicher hyperkalzämischer Zustände zu vermeiden.

Die Kühe wurden solange weiterbehandelt, bis es zum Therapieerfolg kam oder die Tiere aus tierschützerischen Gründen euthanasiert werden mussten. Vier Tiere sind im Rahmen dieser Untersuchung verendet.

Die Nachbehandlungen wurden, entsprechend den Ergebnissen einer ersten Serumuntersuchung in der tierärztlichen Praxis, individuell angepasst.

War nur der Kalziumspiegel erniedrigt, so wurde die eingeleitete Erstbehandlung entsprechend der Gruppenzugehörigkeit wiederholt.

Bei einem gleichzeitigen Phosphormangel wurden je Behandlung zusätzlich 100 ml Vetophos® verabreicht.

Bei Hinweisen auf eine Schädigung der Leber bzw. auf eine Stoffwechselstörung derselben, wurde den Tieren 1000 ml Arynin® und 15 ml Dexatad® intravenös verabreicht, ebenso beim Verdacht auf Nervenquetschungen und/oder Verletzungen der Muskulatur.

Lagen sowohl Störungen im Mineralhaushalt als auch Störungen der Leber und/oder geburtsbedingte Verletzungen vor, dann wurden die entsprechenden Infusionstherapien bei der Nachbehandlung kombiniert verabreicht.

Da nicht von jeder Kuh eine abschließende Blutprobe entnommen werden konnte, wurde der Behandlungserfolg am Wiedererlangen des Stehvermögens gemessen. Dabei waren die Tiere entweder selbstständig in der Lage aufzustehen, oder sie wurden beim ersten Mal mittels verschiedener Hebevorrichtungen unterstützt.

Als nicht geheilt galten alle Tiere, die aus tierschützerischen Gründen euthanasiert werden mussten oder verendet sind.

3.5 Probenentnahme und -aufbereitung

Die Blutproben wurden unmittelbar vor jeder Behandlung (Erst- und Nachbehandlungen) durch die für die Infusion in die gestaute Vena jugularis eingebrachte Kanüle entnommen. Es wurden jeweils zwei Serumröhrchen befüllt, um sicher zu stellen, dass genügend Serum für die verschiedenen klinisch-chemischen Untersuchungen in der tierärztlichen Praxis und im Untersuchungslabor zur Verfügung stand. Der Transport des Blutes bis zur ersten Weiterverarbeitung in der Praxis erfolgte gekühlt (Thermoboxen bzw. Autokühlschrank).

Jeweils 5 ml Serum wurde durch das Zentrifugieren der Blutproben für 10 Minuten bei 3000 U/min gewonnen und anschließend bei – 30 °C in speziellen Cryoröhrchen (Firma Roth) bis zur vollständigen klinisch-chemischen Analyse im Untersuchungslabor gelagert. Die fortlaufend durchnummerierten Proben wurden zusätzlich durch die Beschriftung mit einem gefriertauglichen Stift den einzelnen Patienten mit Namen des Besitzers und Datum zugeordnet.

Der Rest des gewonnenen Serums wurde bei Kühlschranktemperaturen für 24 Stunden aufbewahrt, um bei einem Therapieversagen die Untersuchung einiger ausgewählter Parameter (Kalzium, Phosphor, Gesamtbilirubin und Kreatinkinase) direkt in der tierärztlichen Praxis vorzunehmen. Das somit direkt zur Verfügung stehende Untersuchungsergebnis dieser Vorauswahl an Parametern sollte die klinische Verdachtsdiagnose erhärten oder andere mögliche Krankheitsursachen aufzeigen. Damit sollte erreicht werden, dass die nötigen Nachbehandlungen spezifischer auf die entsprechende Mineralstoffentgleisung bzw. Organstörung angepasst werden konnten.

3.6 Laboruntersuchungen

Trat nach der Erstbehandlung kein Therapieerfolg ein, dann wurde die Rückstellprobe des Patientenserums in der tierärztlichen Praxis mit Hilfe des Trockenanalysegerätes VETTEST 8008 in der Version 6.5 bzw. 6.7 untersucht. Die Serumkonzentrationen des Kalziums, des Phosphors und des Gesamtbilirubins wurden dabei direkt aus dem Serum ermittelt. Zur Bestimmung der Kreatinkinase (CK) musste das Serum vorher 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden, da das Analysegerät stark erhöhte CK-Werte sonst nicht messen kann.

Die vollständige Untersuchung des klinisch-chemischen Profils aller Serumproben erfolgte durch das Institut für klinische Prüfung Ludwigsburg GmbH in dessen veterinärmedizinischem Labor (Vet·Med·Labor).

Das ausgewertete Profil für festliegende Kühe umfasste dabei die folgenden Parameter:

- Gesamtkalzium
- anorganisches Phosphat
- Magnesium
- Aspartataminotransferase (AST [GOT])
- Kreatinkinase (CK)
- Glutamatdehydrogenase (GLDH)
- β -Hydroxybuttersäure
- Gesamtbilirubin
- Harnstoff-N
- Cholesterin

Das jeweilige Analyseverfahren für die verschiedenen untersuchten Parameter ist der Tabelle 7 zu entnehmen.

Tab. 7: Analysemethoden des Institutes für klinische Prüfung Ludwigsburg GmbH

Parameter	Bestimmungsmethode
Kalzium Phosphor Gesamtbilirubin β -Hydroxybuttersäure	Photometrische Messung mittels Endpunktbestimmung unter der Berücksichtigung des Probenleerwertes nach verschiedenen parameterabhängigen Farbreaktionen
Magnesium Cholesterin	Quantitative Messung durch eine vollautomatische photometrische Bestimmung
Aspartataminotransferase Glutamatdehydrogenase Kreatinkinase	Enzymkinetische Bestimmung der Aktivität über die Änderung des spektralen Absorptionsmaßes zwischen ausgewählten Messpunkten
Harnstoff	Vollenzymatische quantitative Bestimmung unter Verwendung des gekoppelten Enzyms Urease/Glutamat-Dehydrogenase

Anhand der Blutbefunde wurden die festliegenden Tiere in den Untersuchungsergebnissen zunächst hinsichtlich der festgestellten Elektrolytimbalance in fünf Gruppen unterteilt. Dafür wurde die Einteilung gemäß der Tabelle 2 zugrundegelegt. Nachfolgend wurden alle Patienten einem Ursachenkomplex zugeordnet, der bei dem jeweiligen Patienten für das Festliegen verantwortlich gemacht wurde. Die Einteilung erfolgte hierbei hinsichtlich dem Auftreten von Mineralstoffstörungen, von Schäden an der Muskulatur, von einer Schädigung der Leber oder aber von den verschiedenen Kombinationen dieser Ursachen.

3.7 Statistische Methoden

Die statistische Bearbeitung erfolgte mit dem Computerprogramm zur statistischen Datenanalyse SPSS in der Version 11. Die Auswertungen zur deskriptiven Statistik, zu den Häufigkeitsverteilungen und zum Medianvergleich zwischen verschiedenen Gruppen wurden damit erstellt. Auch die Boxplots und Balkendiagramme wurden mit Hilfe dieses Programmes erzeugt.

Neben der Angabe zur Häufigkeitsverteilung der einzelnen Parameter und deren minimaler und maximaler Ausprägung wurde der Median als Lagemaß für die überwiegend nicht normal verteilten Parameter gewählt.

Die Überprüfung auf mögliche Unterschiede in den beiden Rassegruppen und in den Behandlungsgruppen bezüglich anamnestischer, klinischer und klinisch-chemischer Befunde sowie zur Beurteilung der Behandlungserfolge wurde auf Grund der fehlenden Normalverteilung der meisten Parameter mit nichtparametrischen Tests durchgeführt. Bei ordinalskalierten Daten wurde der Mann-Whitney U-Test durchgeführt.

Für die nominalskalierten Daten wurde der Chi-Quadrat-Test (χ^2) angewendet.

Das Signifikanzniveau wurde dabei jeweils auf $p \leq 0,05$ festgelegt. Signifikante Unterschiede wurden in den Tabellen durch unterschiedliche Indices (a, b, c) markiert. Konnte auf Grund geringer Fallzahlen kein Test durchgeführt werden, so wurde dies durch ein Minuszeichen (-) markiert.